Produits Elucigene® QST*R®
Mode d'emploi

Produit	Taille	Code du catalogue
Elucigene QST*R*plus*v2	50 tests	AN0PLB2
Elucigene QST*R	50 tests	AN003B2
Elucigene QST*R-XYv2	50 tests	AN0XYB2
Elucigene QST*R-13	10 tests	AN013BX
Elucigene QST*R-18	10 tests	AN018BX
Elucigene QST*R-21	10 tests	AN021BX

IVD Dispositif de diagnostic in vitro

Fabriqué par Elucigene Diagnostics
Elucigene Diagnostics
Greenheys House
Pencroft Way
Manchester Science Park
Manchester
M15 6JJ

CE

Pour joindre le service des ventes, le service à la clientèle et le service technique :
T: +44 (0) 161 669 8122
F: +44 (0) 161 669 8129
E: enquiries@elucigene.com
E: techsupport@elucigene.com

Elucigene Diagnostics is the trading name of Delta Diagnostics (UK) Limited, a company registered in England and Wales, registration number 8696299.

Elucigene QST*R

La gamme des produits Elucigene QST*R se compose d'essais reposant sur de le DNA multiplexé, utilisés pour le dépistage prénatal rapide des types d'aneuploïdie pour les trois trisomies autosomiques viables les plus répandues ainsi que les chromosomes sexuels X et Y. Les kits Elucigene QST*R sont disponibles dans les formats ci-dessous. Pour obtenir plus d'informations sur les kits de la gamme QST*R, veuillez consulter le site Internet www.elucigene.com/products

Usage prévu

QST*R*plus*v2

Pour le diagnostic quantitatif *in vitro* routinier des trois trisomies autosomiques viables les plus répandues : trisomie 13 (syndrome de Patau), trisomie 18 (syndrome d'Edwards) et trisomie 21 (syndrome de Down). Le kit comprend également les marqueurs chromosomiques X et Y ainsi que le marqueur TAF9L pour la détermination du type sexuel. La méthode employée par le kit Elucigene QST*R*plus*v2est la technique de réaction en chaîne par polymérase-fluorescence quantitative (QF-PCR). Les dispositifs sont conçus pour être utilisés avec de le DNA extrait de liquide amniotique ou d'échantillons de villosités choriales prélevés au cours d'une amniocentèse. Le test est destiné aux femmes enceintes estimées « à haut risque » d'un fœtus affecté sur la base de procédures diagnostiques biochimiques ou échographiques, ou estimées « à risque » en raison d'antécédents familiaux ou de l'âge maternel. Le dispositif est conçus- pour être utilisé avec d'autres procédures diagnostiques pour avérer ou écarter le diagnostic clinique proposé.
Le dispositif est exclusivement à usage professionnel en milieu de laboratoire moléculaire ou cytogénétique.

QST*R

Pour le diagnostic quantitatif *in vitro* routinier des trois trisomies autosomiques viables les plus répandues : trisomie 13 (syndrome de Patau), trisomie 18 (syndrome d'Edwards) et trisomie 21 (syndrome de Down). La méthode employée par le kit Elucigene QST*R est la technique de réaction en chaîne par polymérase-fluorescence quantitative (QF-PCR). Les dispositifs sont conçus pour être utilisés avec de le DNA extrait de liquide amniotique ou d'échantillons de villosités choriales prélevés au cours d'une amniocentèse. Le test est destiné aux femmes enceintes estimées « à haut risque » d'un fœtus affecté sur la base de procédures diagnostiques biochimiques ou échographiques, ou estimées « à risque » en raison d'antécédents familiaux ou de l'âge maternel. Le dispositif est conçus- pour être utilisé avec d'autres procédures diagnostiques pour avérer ou écarter le diagnostic clinique proposé.
Le dispositif est exclusivement à usage professionnel en milieu de laboratoire moléculaire ou cytogénétique.

QST*R-XYv2

Pour le diagnostic quantitatif in vitro du type de chromosome sexuel aneuploïdes. La méthode employée par le kit Elucigene QST*R-XYv2 est la technique de réaction en chaîne par polymérase-fluorescence quantitative (QF-PCR). Les dispositifs sont conçus pour être utilisés avec de le DNA extrait de liquide amniotique ou d'échantillons de villosités choriales prélevés au cours d'une amniocentèse. Le test est destiné aux femmes enceintes estimées « à haut risque » d'un fœtus affecté sur la base de procédures diagnostiques biochimiques ou échographiques, ou estimées « à risque » en raison d'antécédents familiaux ou de l'âge maternel. Le dispositif est conçus- pour être utilisé avec d'autres procédures diagnostiques pour avérer ou écarter le diagnostic clinique proposé.
Le dispositif est exclusivement à usage professionnel en milieu de laboratoire moléculaire ou cytogénétique.

QST*R-13, QST*R-18, QST*R-21
Kits supplémentaires contenant d'autres marqueurs chromosomiques, à utiliser avec QST*R ou QST*R*plus*v2, pour le diagnostic quantitatif *in vitro* routinier des trois trisomies autosomiques viables les plus répandues : respectivement la trisomie 13 (syndrome de Patau), la trisomie 18 (syndrome d'Edwards) et la trisomie 21 (syndrome de Down). Ces kits sont disponibles pour des tests chromosomiques étendus lorsque cela est nécessaire ou pour confirmer des résultats positifs. La méthode employée par ces kits est la technique de réaction en chaîne par polymérase-fluorescence quantitative (QF-PCR). Les dispositifs sont conçus pour être utilisés avec de le DNA extrait de liquide amniotique ou d'échantillons de villosités choriales prélevés au cours d'une amniocentèse. Le test est destiné aux femmes enceintes estimées « à haut risque » d'un fœtus affecté sur la base de procédures diagnostiques biochimiques ou échographiques, ou estimées « à risque » en raison d'antécédents familiaux ou de l'âge maternel. Le dispositif est conçus- pour être utilisé avec d'autres procédures diagnostiques pour avérer ou écarter le diagnostic clinique proposé.
Le dispositif est exclusivement à usage professionnel en milieu de laboratoire moléculaire ou cytogénétique.

Résumé et explication

Le syndrome de Down, le syndrome d'Edwards et le syndrome de Patau sont les trois trisomies autosomiques viables les plus répandues. Les incidences sont respectivement de 1 cas pour 700, 1 cas pour 3 000 et 1 cas pour 21 700 naissances vivantes. Les syndrome de Turner chez la femme et le syndrome de Klinefelter chez l'homme constituent les aneuploïdies des chromosomes sexuels les plus répandus. La cause la plus répandue du syndrome de Turner est la monosomie du chromosome X (caryotype 45, X) et pour le syndrome de Klinefelter une copie supplémentaire du chromosome X (caryotype 47, XXY). Les incidences sont respectivement de 1 cas pour 2 000 à 1 cas pour 5 000 naissances vivantes chez les femmes, et de 1 cas pour 500 à 1 cas pour 650 naissances vivantes chez les hommes.

Le risque d'avoir un enfant atteint du syndrome de Down augmente significativement avec l'âge de la mère, de 1 cas pour 1 600 entre 20 et 24 ans, de 1 cas pour 200 à l'âge de 35 ans, et de 1 cas pour 19 à 45 ans et plus. Les femmes enceintes se voient systématiquement proposer un dépistage pour le syndrome de Down au cours du premier trimestre de la grossesse. Un test standard est le test « OSCAR »: **O**ne **S**top **C**linical **A**ssessment of **R**isk, basé sur le principe des cliniques multidisciplinaires de dépistage prenatal et effectué entre 10 à 13,5 semaines de grossesse. Il associe deux marqueurs biochimiques, la ß-hCG libre (Gonadotrophine chorionique humaine) et la PAPP-A (Protéine plasmatique placentaire de type A), avec une mesure de l'épaisseur du pli nucal fœtal (clarté nucale) (1). L'association des résultats de ces trois tests donne une estimation globale du risque. Les femmes estimées comme étant plus à risque d'avoir un enfant atteint du syndrome de Down se voient alors proposer une amniocentèse pour tester directement l'anomalie. L'amniocentèse est un test invasif et implique l'introduction d'une aiguille, sous contrôle échographique, dans le sac amniotique entourant le fœtus. Un petit échantillon, généralement de 10 à 20 ml, de liquide amniotique contenant des cellules fœtales est prélevé et testé.

Le syndrome de Down a été découvert par le docteur John Langdon Down en 1866, bien que la maladie ait été décrite plus tôt. Ce syndrome est provoqué par la trisomie totale ou partielle du chromosome 21 (2). Les personnes atteintes du syndrome de Down présentent un retard mental de degré variable et partagent un certain nombre de caractéristiques communes, notamment une hypotonie (faible tonus musculaire), une langue qui a tendance à sortir, des yeux en amande en raison d'un épicanthus (repli

cutané), des fentes palpébrales obliques, un pli palmaire unique et des membres plus courts que la normale. Ces personnes ont également un risque accru de malformations cardiaques congénitales et de développer une forme de maladie d'Alzheimer plus tard dans la vie.

Le syndrome d'Edwards a d'abord été décrit par le docteur John Edwards en 1960. Ce syndrome est provoqué par la trisomie totale ou partielle du chromosome 18. Comme le syndrome de Down, le risque qu'un enfant présente un syndrome d'Edwards augmente avec l'âge maternel. Les caractéristiques cliniques types incluent un faible poids de naissance, une malformation cardiaque, une malformation génito-urinaire, des troubles neurologiques et des anomalies cranio-faciales. La durée de survie médiane est de 4 jours.

Le syndrome de Patau et son association chromosomique ont été découverts par le docteur Klaus Patau. Ce syndrome est provoqué par la trisomie totale ou partielle du chromosome 13. Les bébés atteints du syndrome de Patau sont gravement touchés avec plusieurs anomalies. Les caractéristiques types incluent un retard de croissance utérin, un faible poids de naissance, des malformations cardiaques congénitales, une microcéphalie, une holoprosencéphalie avec fente palatine et microphtalmie, apnée centrale, polydactylie et pieds en piolet. La durée de survie médiane est de 2,5 jours.

Chez les femmes, le syndrome de Turner est provoqué par la monosomie du chromosome X. Environ 98 % des fœtus atteints du syndrome de Turner aboutissent à une fausse couche spontanée. Les enfants qui survivent présentent un certain nombre de caractéristiques types, notamment une petite taille, une aménorrhée primaire, un cou palmé (dérivé d'un hygroma kystique, un sac rempli de fluide, in utero). Ces enfants souffrent aussi typiquement de cardiopathie congénitale et peuvent présenter des reins en fer à cheval.

Chez les hommes, le syndrome de Klinefelter est provoqué par la présence d'une copie supplémentaire du chromosome X. Les hommes atteints du syndrome de Klinefelter sont infertiles et présentent un léger retard mental. Ils sont typiquement plus grands que la moyenne, peuvent développer une gynécomastie nécessitant une réduction chirurgicale, et sont à risque augmenté de développer une ostéoporose en raison d'un niveau de testostérone diminué.

QST*R*plus*v2 inclut des marqueurs pour les trois autosomes et pour X et Y. Il est conçu pour détecter les aneuploïdies de chromosome complètes dans ces chromosomes, mais ne détectera pas les réorganisations structurelles équilibrées et ne distinguera pas une aneuploïdie causée par un événement de non-disjonction d'une réorganisation déséquilibrée.

Principes de la procédure

La méthode employée par les kits Elucigene QST*R est la technique de réaction en chaîne par polymérase-fluorescence quantitative (QF-PCR) (3-7). En utilisant l'amplification PCR, les amorces marquées par des fluorochromes ciblent les régions de séquence du DNA hautement polymorphiques appelées STR (pour Short Tandem Repeat ou séquences brèves répétées en tandem) qui se situent sur les chromosomes d'intérêt. Chaque marqueur STR ciblé est spécifique du chromosome sur lequel il se situe ; le nombre de copies du marqueur STR peut donc être un diagnostic du nombre de copies du chromosome. Des marqueurs STR informatifs ont été sélectionnés pour leur hétérogénéité élevée, afin de pouvoir déterminer facilement le nombre de copies. Un échantillon diploïde normal comporte le jeu normal de deux de chacun des chromosomes somatiques, donc deux allèles d'un STR spécifique du chromosome sont déterminés par la technique de QF-PCR comme deux pics avec un rapport 1:1. La présence d'un allèle

de STR supplémentaire sous la forme d'un ensemble de trois pics avec un rapport 1:1:1 ou un ensemble de deux pics avec un rapport 2:1 ou 1:2 est un diagnostic de la présence d'une séquence supplémentaire, qui peut à son tour représenter un chromosome supplémentaire, comme c'est le cas pour une trisomie.

Les produits amplifiés de la technique de QF-PCR font l'objet d'une analyse quantitative sur un analyseur génétique par électrophorèse capillaire pour déterminer le nombre de copies des marqueurs STR analysés.

Avertissements et précautions

1. Le contrôle DNA normal fourni avec les kits a été testé de manière indépendante et trouvé négatif pour le virus de l'hépatite B (VHB), le virus de l'hépatite C (VHC) et les virus de l'immunodéficience humaine (VIH) 1 et 2.

2. Il est important de manipuler le matériel d'origine humaine avec précaution. Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Aucune méthode d'analyse ne peut garantir totalement l'absence du VHB, du VHC, du VIH ou d'autres agents infectieux.

3. La manipulation des échantillons et des composants du test, leur utilisation, leur conservation et leur élimination doivent respecter les procédures définies par les recommandations ou les réglementations nationales appropriées de sécurité biologique.

4. Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire actuelles, les laboratoires doivent traiter leurs propres échantillons internes de CQ de génotype connu avec chaque analyse, de manière à évaluer la validité de la procédure.

5. Si le carton du kit est endommagé, le contenu risque de l'être aussi ; ne pas utiliser le kit et contacter le service à la clientèle.

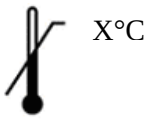
Symboles utilisés sur les étiquettes

Les symboles utilisés sur l'ensemble des étiquettes et conditionnements respectent la norme harmonisée ISO15223

Fabricant

Nombre de tests

Voir le mode d'emploi



Conserver en dessous de la température indiquée

Utiliser avant la date indiquée

Code du catalogue

Numéro de lot ou de série

Dispositif médical de diagnostic in vitro

Matériel fourni

Conserver tous les composants en dessous de -20 °C.

Chaque kit comporte :

(TA) : 2 x 250 µl (50 tests) ou 1 x 100 µl (10 tests) de mélange réactif QST*R, contenant des amorces pour amplifier un certain nombre de marqueurs STR (Short Tandem Repeat). Consulter l'annexe 2 pour obtenir des détails sur les marqueurs dans chaque kit. Le mélange réactif QST*R contient également de le DNA polymérase et des désoxynucléotides triphosphates dans du tampon.

Kit	**Flacons de PCR de 0,2 ml**	**N° de référence**
Elucigene QST*R*plus*v2	Transparent	404454
Elucigene QST*R	Orange	404442
Elucigene QST*R-XYv2	Rose	404457
Elucigene QST*R-13	Vert	404445
Elucigene QST*R-18	Violet	404448
Elucigene QST*R-21	Jaune	404451

(DC) : 1 flacon de 50 µl du DNA de contrôle, diploïde pour les marqueurs détectés par Elucigene QST*R :

Kit	**N° de référence du composant**
Elucigene QST*R*plus*v2	404485
Elucigene QST*R	404485
Elucigene QST*R-XYv2	404485
Elucigene QST*R-13	404485
Elucigene QST*R-18	404485
Elucigene QST*R-21	404485

50 (10) flacons de PCR de 0,2 ml, avec le code couleur décrit ci-dessus.

Préparation et conservation du kit

À l'ouverture du kit, il est recommandé que le mélange réactif soit distribué dans les flacons de PCR de 0,2 ml fournis (ou des flacons équivalents) en volumes de 10 µl, et congelés à -20 °C. S'assurer que le contenu des flacons est complètement décongelé et mélangé avant la distribution.

Matériel nécessaire mais non fourni

Général

Consommables de laboratoire – Gants ; embouts de pipette.
Équipement de laboratoire – Pipettes de précision (2 jeux : 1 pour la manipulation préamplification et 1 pour la manipulation post-amplification ; pipettes à déplacement positif de préférence) ; vêtements de protection ; vortexeur, micro-centrifugeuse ; centrifugeuse à plaque de microtitration de 96 puits.

Extraction du DNA

Préparation du DNA – InstaGene Matrix (Bio-Rad Laboratories, N° de cat. 732-6030), eau sterile désionisée.

Amplification par PCR

Thermocycleur adapté pour des plaques de microtitration de 96 puits ou des flacons de 0,2 ml avec une exactitude de température de ±1 °C dans la plage 33-100 °C et une uniformité statique de température de ±1 °C.

Électrophorèse capillaire

Électrophorèse capillaire – Marqueur de taille GeneScan 500 LIZ (ABI N° de cat. 4322682), GeneScan 600 LIZ (ABI N° de cat. 4366589) ou GeneScan 600v2 LIZ (ABI N° de cat. 4408399), matrice standard DS-33 (ensemble de fluorochromes G5) (ABI N° de cat. 4345833), polymère POP-7 (ABI N° de cat. 4352759), 10x Genetic Analyzer Buffer (tampon d'analyseur génétique concentré) (ABI N° de cat. 402824) et formamide Hi-Di (ABI N° de cat. 4311320).

Analyseurs génétiques Applied Biosystems ABI 3130 et 3500 (avec logiciel GeneMapper), rangée de capillaires de 36 cm (rangée de capillaires de 50 cm pour l'analyseur génétique 3500), plaques optiques de 96 puits, septas pour 96 puits, cassettes de 96 puits.

Analyse des données

L'un des progiciels d'analyse de données suivants est requis : GeneMapper 3.7 (Applied Biosystems Inc.) ou version ultérieure ou GeneMarker 1.65 (SoftGenetics LLC) ou version ultérieure.

Documentation Elucigene QST*R supplémentaire

Ce mode d'emploi comprend un chapitre de base sur l'interprétation des résultats obtenus. Un **Guide to Interpretation** (Guide d'interprétation) supplémentaire avec des exemples et un glossaire ainsi qu'un **Guide to Analysis** (Guide d'analyse) sont disponibles sur le site Internet de Elucigene Diagnostics :
www.elucigene.com/products

Collecte et conservation des échantillons

Utiliser des échantillons de villosités choriales (VC) ou de liquide amniotique (LA). Il a parfois été signalé que les dispositifs de collecte d'échantillon nuisent à l'intégrité de certains analytes et qu'ils peuvent interférer avec les technologies de certaines méthodes. Il est recommandé à chaque utilisateur de s'assurer que le dispositif choisi est utilisé conformément aux instructions du fabricant et que les dispositifs de collecte d'échantillons et les autres méthodes de préparation de le DNA soient compatibles avec ce test.

Extraction du DNA

Les kits Elucigene QST*R sont validés sur la méthode d'extraction de le DNA à matrice InstaGene et peuvent être réalisés dans un seul tube, éliminant le besoin des transferts entre tubes. D'autres méthodes d'extraction ont été démontrées comme fournissant des résultats tout aussi fiables, par ex. les kits Qiagen QIAamp.

La méthode d'extraction de le DNA InstaGene est décrite ci-dessous.

Méthode d'extraction InstaGene

Liquide amniotique (LA)
Utiliser environ 1 à 2 ml de liquide amniotique.

Villosités choriales (VC)
Les échantillons de VC doivent être soigneusement nettoyés pour éliminer toute décidua maternelle adhérente. Il est important de tester les cellules de plus d'une région de l'échantillon, et que les cellules du noyaux mésenchymateux soient représentées. Une petite aliquote de la suspension cellulaire, préparée pour une culture cellulaire conventionnelle, est recommandée pour l'analyse QST*R. Cela assurer que le résultat QST*R est obtenu de la même population de cellules utilisée pour l'analyse du caryotype.

1. Remettre la matrice InstaGene en suspension sur le mélangeur magnétique et agiter à vitesse moyenne pendant au moins 5 minutes.

2. Centrifuger l'échantillon (LA ou VC) à 12 000 g pendant 1 minute pour former une pastille de cellules.

3. Retirer les échantillons de la centrifugeuse et vérifier visuellement la pastille pour une coloration par le sang. Le cas échéant, noter le pourcentage de coloration par le sang.

4. Retirer avec précaution et jeter le surnageant de la pastille en veillant à ne pas interférer avec la pastille. Laisser environ 10 à 20 µl de surnageant pour remettre la pastille en suspension.

5. Mélanger soigneusement l'échantillon par agitation au vortex.

6. Si une coloration par le sang de plus de 50 % est observée, passer à l'étape 7. Si une coloration par le sang de moins de 50 % est observée, passer à l'étape 8.

7. Ajouter 200 µl d'eau désionisée stérile à la pastille de cellules. Mélanger soigneusement par agitation au vortex. Centrifuger à 12 000 g pendant 1 minute, retirer le surnageant en laissant environ 10 à 20 µl de surnageant pour remettre la pastille en suspension.
Remarque : *cette étape de nettoyage supplémentaire aide à lyser des globules rouges et à éliminer l'hème susceptible d'inhiber la PCR.*

8. Ajouter 200 µl de la matrice InstaGene de l'étape 1 aux échantillons en utilisant un embout de pipette à ouverture large, comme un embout 1 000 µl.
Remarque : *pour optimiser le protocole d'extraction, le volume de matrice InstaGene ajouté (résine Chelex-100) peut être varié en utilisant 100 µl de matrice InstaGene pour les petites pastilles de cellules LA (à peine visible), ou 300 µl pour les pastilles de grand taille (recouvrant le fond du tube), les VC et les échantillons de tissus. Noter la quantité de matrice InstaGene ajoutée à chaque échantillon.*

9. Mélanger soigneusement les échantillons par agitation au vortex et incuber à 100 °C pendant 8 minutes dans un bloc chauffant ou au bain-marie.

10. Mélanger à nouveau soigneusement par agitation au vortex à haute vitesse pendant 10 secondes.

11. Centrifuger les échantillons à 12 000 g pendant 3 minutes. Le surnageant contient le DNA extrait.

12. Procéder à l'installation de la PCR ou conserver le DNA extrait à -20 °C jusqu'à ce qu'il soit requis.

Concentration du DNA

Il est recommandé d'évaluer minutieusement les autres méthodes d'extraction de le DNA et types d'échantillon avec le test Elucigene QST*R avant d'utiliser les résultats à des fins de diagnostic.

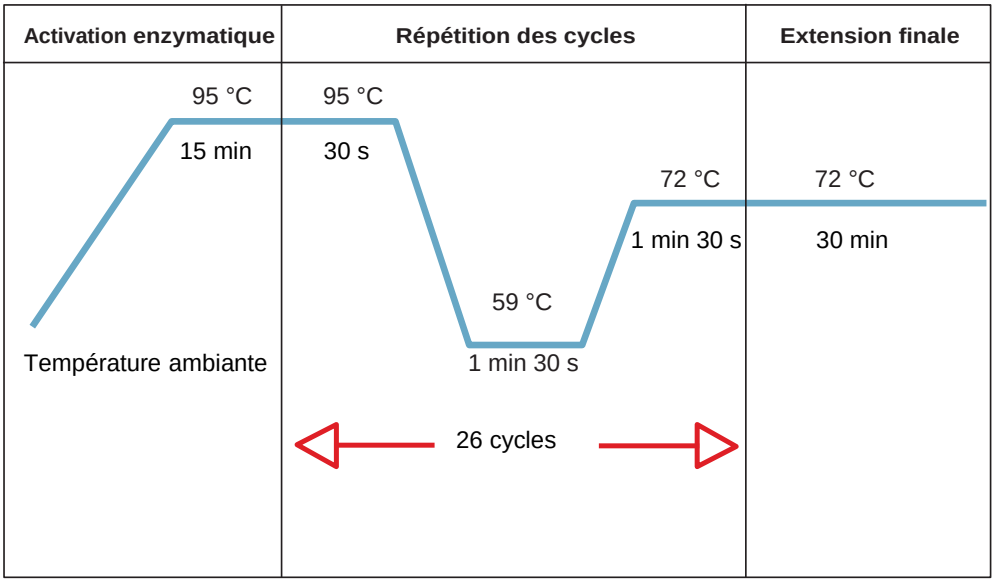
Avec des conditions PCR optimales et en respectant les paramètres recommandés pour l'injection des échantillons* indiqués dans le module de traitement de la colonne capillaire (page 13), les résultats obtenus sont réguliers avec des quantités du DNA de départ de 1,25 à 10 ng.
***Remarque :** les paramètres d'injection des échantillons peuvent être modifiés pour s'adapter à la quantité d'amplicon produite au cours de la PCR, qui peut varier en fonction de la quantité du DNA de genomic DNA ajoutée. Une quantité moindre d'amplicon peut être ajoutée à la colonne pour analyse en réduisant soit la durée d'injection. À l'inverse, une quantité plus élevée d'amplicon peut être ajoutée à la colonne pour analyse en augmentant soit la durée soit la tension d'injection. Les échantillons précédemment amplifiés peuvent être ré-injectés à plusieurs reprises pour une nouvelle analyse.*

Protocole de test

Procédure d'amplification

Quand les échantillons ont été extraits en utilisant la méthode InstaGene, il est recommandé d'utiliser le surnageant non dilué directement dans la PCR.
***Remarque :** afin de minimiser le risque de contamination, les étapes 3 à 5 doivent être effectuées dans une zone exempte du DNA. Des mesures doivent également être prises pour éviter toute contamination par le produit PCR.*

1. Programmer le thermocycleur pour un cycle à étape unique pour activer le DNA polymérase à 95 °C pendant 15 minutes, relié à un programme de thermocyclage d'amplification de 30 minute à 95 °C (dénaturation), 1 minute et 30 secondes à 59 °C (renaturation) et 1 minute et 30 secondes à 72 °C (extension) pendant 26 cycles. Cela peut être associé à un fichier retardé de 30 minutes à 72 °C (extension) pendant le cycle final.



2. Un contrôle négatif (eau) doit être inclus dans chaque série PCR. Il peut aussi être approprié d'inclure d'autres contrôles, par ex. contrôle positif normal (contrôle ADN fourni) et contrôle positif de trisomie (ADN non fourni).

3. Décongeler suffisamment de flacons de mélange réactif QST*R pré-aliquoté pour le nombre d'échantillons et de contrôles à tester (consulter la remarque sous Matériel fourni) et centrifuger les flacons à 12 000 g pendant 10 secondes.

4. À l'aide d'embouts de pipette distincts, ajouter 2,5 µl du DNA de test dans un flacon contenant 10 µl de mélange réactif QST*R, et mélanger par pipetage va-et-vient. Répéter pour tous les échantillons à tester.
Ne pas ajouter du DNA au flacon de PCR pour le contrôle négatif, remplacer par 2,5 µl d'eau désionisée stérile.
Remarque : *veiller à ne pas contaminer la PCR avec de la résine InstaGene.*

5. Centrifuger brièvement les flacons jusqu'à ce que tout le liquide soit au fond de chaque flacon.

6. Placer fermement tous les flacons dans le bloc du thermocycleur. Lancer le programme d'activation à 95 °C, suivi par le programme d'amplification (voir l'étape 1).

7. À la fin du programme d'amplification, les échantillons peuvent être conservés à température ambiante jusqu'au lendemain ou à 2-8 °C pendant une durée maximum de 7 jours avant leur analyse par électrophorèse capillaire.

Électrophorèse capillaire

Il est recommandé à chaque utilisateur de s'assurer que l'équipement choisi est utilisé conformément aux instructions du fabricant et qu'il est compatible avec ce test. Dans cette situation, les paramètres clés sont le polymère et la rangée de capillaires. Les conditions d'électrophorèse capillaire suivantes permettent d'obtenir des résultats optimaux sur un analyseur génétique ABI3130 ou ABI3500.

1. Mélanger 6,85 µl de marqueur de taille à 250 µl de formamide Hi-Di et agiter soigneusement (mélange suffisant pour 16 puits). Distribuer 15 µl du mélange dans le nombre requis de puits d'une plaque optique à 96 puits.

2. Ajouter 3 µl de produit PCR au mélange de marqueur de taille (de l'étape 1) déjà distribué dans la plaque et mélanger en utilisant la pipette. Sceller la plaque.

3. Dénaturer le produit PCR distribué dans la plaque optique sur un thermocycleur avec les paramètres suivants : 94 °C pendant 3 minutes puis 4 °C pendant 30 secondes.

4. Centrifuger la plaque à 1 000 g pendant 10 secondes pour éliminer les bulles des puits, puis charger sur l'analyseur génétique.

ABI3130 GENETIC ANALYZER (ANALYSEUR GÉNÉTIQUE)

Créer une fiche d'échantillon à l'aide du logiciel de collecte des données 3130 en utilisant les paramètres suivants :

• Nom de l'échantillon : Le même nom ou numéro spécifique de l'échantillon.

• Propriétaire de la série : Sélectionner le propriétaire par défaut du laboratoire.

• Protocole de série : QSTR (contient le module de série QST*R 3130 – voir ci-dessous)*.

Remarque : *Il est nécessaire de créer un module de série détaillant les paramètres de l'instrument et de l'affecter ensuite à un protocole de série dans lequel l'ensemble de fluorochromes G5 a été sélectionné. Pour de plus amples informations sur la création de modules de série, veuillez consulter le manuel utilisateur de votre instrument.*

3130 RUN MODULE (MODULE DE SÉRIE)

POUR LE POLYMÈRE POP7

Module de capillaires de 36 cm: QSTR

#	Parameter Name	Value	Range
1	Oven Temperature	60	int 18…65 Deg.C
2	Poly_fill_Vol.	6500	6500…38000 steps
3	Current Stability	5.0	int 0…2000 uAmps
4	PreRun_Voltage	15.0	0…15 kvolts
5	Pre_Run_Time	180	1…1000 sec.
6	Injection_Voltage	3.0	1…15 kvolts
7	Injection_Time	15	1…600 sec.
8	Voltage_Number_of_Steps	20	1…100 nk
9	Voltage_Step_Interval	15	1…60 sec.
10	Data_Delay_Time	60	1…3600 sec.
11	Run_Voltage	15.0	0…15 kvolts
12	Run_Time	1200	300…14000 sec.

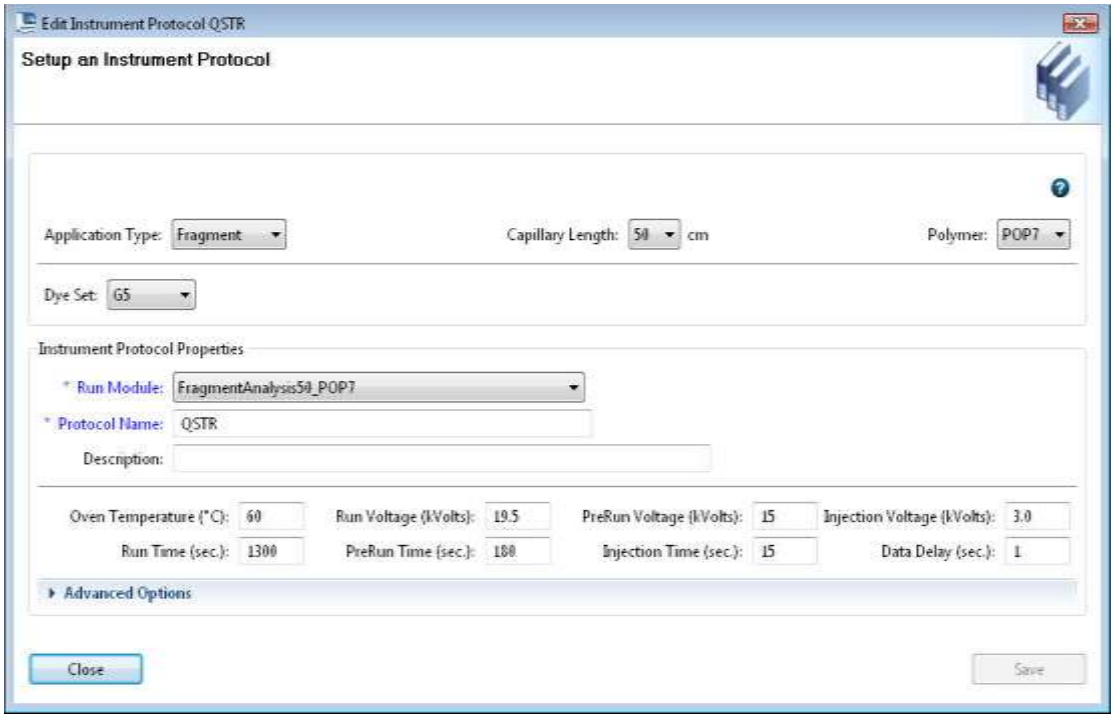
ABI3500 GENETIC ANALYZER (ANALYSEUR GÉNÉTIQUE)

Un protocole QSTR doit être créé et pourra ensuite être réutilisé pour chaque série QSTR. Créer le protocole QSTR à l'aide de la bibliothèque de protocoles du 3500.

S'assurer que les options suivantes sont sélectionnées.

• Run Module (Module de série): FragmentAnalysis50_POP7

• Saisir les paramètres indiqués dans l'image ci-dessous :



Pour traiter les échantillons, créer une plaque d'échantillons en cliquant sur « Create Plate from Template » (Créer plaque à partir de la matrice) sur le « Dashboard » (Tableau de bord), s'assurer que le protocole adéquat pour QSTR a été affecté (voir ci-dessus).

Analyse et interprétation des résultats

Il est recommandé que chaque laboratoire développe ses propres procédures et critères d'interprétation et de compte-rendu. Des directives de meilleurs pratiques pour la QF-PCR ont été documentées par la Association for Clinical Genetic Science au Royaume-Uni, et sont disponibles pour référence à:

www.acgs.uk.com

Les produits PCR sont observés comme un système marqué par 5 fluorochromes utilisant un ensemble de filtres G5. L'ensemble de filtres G5 détecte les fragments marqués au 6-FAM (bleu), au VIC (vert), au NED (jeune) et au PET (rouge) plus le marqueur de taille marqué au LIZ (orange) sur un électrophorégramme et dans le programme GeneMapper ou GeneMarker.

Des guides d'analyse logicielle GeneMarker et GeneMapper sont disponibles sur le site Internet de Elucigene Diagnostics:
www.elucigene.com/products

Le guide d'analyse GeneMapper donne des détails sur les paramètres du logiciel et des instructions pour l'importation des données analysées dans une matrice de compte-rendu Excel. GeneMarker possède une application d'analyse de trisomie qui est compatible avec Elucigene QST*R.

Remarque importante : *Différents combinaisons d'appareil, de polymère et de marqueur de taille peuvent produire une légère variation dans la dénomination des tailles. Au cours de la validation du kit, les utilisateurs doivent vérifier que les paramètres de segment par défaut produisent un étiquetage précis des pics et les ajuster si nécessaire. En cas de difficultés, veuillez contacter le support technique pour obtenir des conseils.*

Directives d'analyse générales pour tous les kits QST*R

1. Le contrôle négatif ne doit montrer aucun pic prononcé dans la plage de lecture comprise entre 100 et 510 bp.

2. Le contrôle positif doit montrer les résultats attendus et tous les pics doivent répondre aux critères ci-dessous.

3. Pour l'analyse des échantillons du DNA, au moins 1 pic doit être observé pour chaque marqueur testé. La plage acceptable pour les pics de marqueur analysés sur l'analyseur génétique 3130 est entre 50 et 6 000 unités relatives de fluorescence (urf) et entre 175 et 32 000 urf pour les analyseurs génétiques 3500. Les hauteurs de pics en dehors de cette plage ne doivent pas être analysées.

4. Les électrophorégrammes de mauvaise qualité en raison d'une diffusion excessive entre les fluorochromes (aussi appelé « pull-up ») ou les « pointes d'électrophorèse » (pics prononcés présents dans plusieurs fluorochromes) ne doivent pas être interprétés. Les produits PCR doivent être ré-injectés et ré-analysés.

5. L'analyse est réalisée par l'évaluation des rapports de pics (A1/A2), où A1 correspond à la surface de pic du fragment plus court et A2 correspond à la surface de pic du fragment plus long. Le rapport résultant est un diagnostic du nombre de copies de locus. Pour les chromosomes disomiques, les marqueurs hétérozygotes doivent montrer deux pics de hauteur similaire. Une analyse complète de l'état du nombre de copies chromosomiques est réalisée par comparaison des rapports de surface de pic.

6. Les marqueurs diallélіques (c.-à-d. deux allèles) hétérozygotes doivent être compris dans une plage de rapport de 0,8 à 1,4. Cependant, pour deux allèles séparés par plus de 24 bp en taille, un rapport maximal de 1,5 est acceptable. Toutes les valeurs comprises dans cette région sont désignées comme ayant un rapport 1:1. Si l'équilibre de rapport est en dehors de cette fenêtre, cela peut être dû à plusieurs facteurs, notamment :

- Trisomie de chromosome complète
- Trisomie de chromosome partielle (y compris les réplications sub-microscopiques)
- Mosaïcisme
- Second génotype contaminant (par ex. maternel, jumeau, externe)
- Parasites (stutters) produisant un biais
- Amplification préférentielle d'un allèle produisant un biais
- Polymorphismes des sites d'amorce
- Mutations somatiques des microsatellites

Le **Guide to Interpretation** (guide d'interprétation) donne des exemples de profils types pour beaucoup de ces facteurs. Les marqueurs homozygotes sont non informatifs car un rapport ne peut pas être déterminé.

7. Pour interpréter un résultat comme anormal (c.-à-d. présence de trisomie), il est nécessaire d'avoir au moins deux marqueurs informatifs correspondant à un génotype triallélique, tous les autres marqueurs étant non informatifs. Il n'est pas recommandé d'interpréter un résultat comme anormal sur la base d'informations provenant d'un seul marqueur. Si nécessaire, des tests de suivi avec les kits de chromosome simple (par ex. Elucigene QST*R-13, Elucigene QST*R-18, Elucigene QST*R-21) peuvent fournir suffisamment d'informations pour l'interprétation.

La trisomie est déterminée par soit :

7.1. Deux pics de hauteur inégale en raison du fait que l'un des pics représente deux allèles présents chez l'un ou les deux parents. Dans ce cas, le rapport entre les deux pics sera classé comme 2:1 ou 1:2 de telle sorte que A1/A2 produira un résultat dans la région de 1,8 à 2,4 quand le pic représentant l'allèle plus court a une surface supérieure à celle du pic représentant l'allèle plus long, ou A1/A2 produira un résultat dans la région de 0,45 à 0,65 quand le pic représentant l'allèle plus court a une surface inférieure à celle du pic représentant l'allèle plus long.

7.2. Trois pics de hauteur comparable sont présents. Le rapport des pics sera classé comme 1:1:1 et leurs valeurs sont comprises dans la plage normale de 0,8 à 1,4 (bien que pour les allèles ayant un écart supérieur à 24 bp un rapport d'allèle maximal de 1,5 soit acceptable). Si cela ne se produit pas, cela peut être dû à l'un des facteurs cités à l'étape 6.

8. Pour interpréter un résultat comme normal, il est nécessaire d'avoir au moins deux marqueurs informatifs correspondant à un génotype diallélique, tous les autres marqueurs étant non informatifs. Un résultat normal indique le complément de deux normal pour les chromosomes testés.

9. Les rapports de région de pic qui sont compris entre les plages normale et anormale sont classés comme non concluants. Les résultats non concluants peuvent être résolus en utilisant les kits de chromosome simple.

10. Si des ensembles d'allèles normaux et anormaux sont obtenus pour un seul chromosome, il est recommandé de réaliser des études de suivi pour identifier la cause des résultats divergents avant de tirer quelque conclusion que ce soit.

11. Dans de rares cas les plages de taille d'allèle pour les marqueurs peuvent se chevaucher. Si cela est suspecté, une analyse avec les kits pour chromosome simple peut résoudre le problème.

Spécifique de QST*R-XYv2 et des marqueurs du chromosome sexuel dans QST*R*plus*v2

1. Le marqueur AMEL amplifie les séquence non polymorphiques sur les chromosomes X (104 bp) et Y (110bp) et peut être utilisé pour déterminer la présence ou l'absence d'un chromosome Y, et représente la quantité relative de séquence X à Y. Veuillez noter qu'en de rares occasions un échec de l'amplification en raison d'une mutation de la séquence AMEL-Y a été signalée.

2. TAF9L est un marqueur paralogue invariant avec des séquences sur les chromosomes 3 et X. Le pic spécifique du chromosome 3 (116 bp, représentant 2 copies du chromosome 3) peut donc être utilisé comme pic de référence pour faciliter la détermination du nombre de chromosomes X présents (pic de 121 bp) Analysé en combinaison avec l'amélogénine et les autres marqueurs des chromosomes sexuels, il est particulièrement utile dans le diagnostic d'aneuploïdie des chromosomes sexuels. Chez une femme normale, les marqueurs doivent être compris dans une fenêtre de rapport de 0,8 à 1,4. Chez un homme normal ou en présence d'une monosomie X, les marqueurs produiront un rapport de 1,8 ou plus. Le guide d'interprétation donne plus de détails sur l'interprétation du marqueur TAF9L.

3. Les marqueurs STR polymorphiques DXYS267 et DXYS218 sont présents sur les chromosomes X et Y, et représentent le nombre total de chromosome sexuels. Pour des résultats informatifs chez l'homme il est impossible de déterminer quel allèle représente le chromosome X ou Y.

4. Les marqueurs informatifs spécifiques de X : DXS981, DXS1187, XHPRT, DXS6807, DXS7423, DXS6803 et DXS6809, représentent le nombre de chromosomes X.

5. Le marqueur SRY spécifique de Y produit un seul pic chez les hommes normaux et n'amplifie pas chez les femmes normales.

6. Le marqueur DYS448 spécifique de Y produit, dans la plupart des cas, un seul pic chez les hommes normaux et n'amplifie pas chez les femmes normales. Il a été signalé qu'en de rares occasions, ce marqueur peut démontrer un ensemble diallélique héritable (réplication sub-microscopique suivie d'une réplication par glissement) ou ne montrer aucune amplification (allèle nul).

7. Un résultat ne montrant aucune amplification pour les marqueurs spécifiques de Y et homozygote pour tous les autres marqueurs n'est pas nécessairement un diagnostic de syndrome de Turner. Sur la base des données publiées, environ 1 sur 170 000 femmes seront homozygotes pour tous les 7 marqueurs polymorphiques spécifiques de X. Cela donne une probabilité bayésienne d'environ 1 sur 1 400 qu'un profil homozygote pour tous les marqueurs spécifiques de X représente un vrai génotype de monosomie X plutôt qu'une femme homozygote normale.

Caractéristiques des performances

VALIDATION INTERNE

QST*R*plus*v2

98 échantillons ont été testés en aveugle avec Elucigene QST*R*plus*v2. Parmi ceux-ci, 22 étaient normaux/XY, 17 étaient normaux/XX, 12 étaient trisomie 21/XY, 7 étaient trisomie 21/XX, 9 étaient trisomie 18/XY, 8 étaient trisomie 18/XX, 2 étaient trisomie 13/XY, 4 étaient trisomie 13/XX, 8 étaient normaux/X0, 1 était normal/XYY et 1 était triploïde pour tous les chromosomes testés.
Un échantillon a produit un résultat non informatif. Six échantillons n'ont pas produit de résultats analysables en raison de leur mauvaise qualité. Tous les résultats analysables ont montré une spécificité et une sensibilité de 100 % par rapport aux résultats obtenus précédemment avec une autre méthode établie.

QST*R

312 échantillons ont été testés en aveugle avec Elucigene QST*R. Parmi ceux-ci, 286 étaient normaux, 2 montraient une trisomie 13, 7 montraient une trisomie 18, 13 montraient une trisomie 21 et 2 étaient triploïdes pour tous les 3 chromosomes testés. Un échantillon présentait une contamination cellulaire maternelle empêchant l'analyse, et un échantillon n'a pas produit de résultat interprétable malgré une amplification répétée. Au total, 310 échantillons ont produit des résultats analysables. Tous les résultats analysables ont montré une spécificité et une sensibilité de 100 % par rapport aux résultats obtenus précédemment par caryotypage.

QST*R-XYv2

321 échantillons ont été testés en aveugle avec Elucigene QST*R-XYv2. Parmi ceux-ci, 160 étaient normaux masculins, 147 étaient normaux féminins, 3 montraient une monosomie X, 2 montraient XXY, 2 montraient XYY et 1 montrait XXX. Six échantillons n'ont pas produit de résultats interprétables malgré une amplification répétée. Au total, 315 échantillons ont produit des résultats analysables. Tous les résultats analysables ont montré une spécificité et une sensibilité de 100 % par rapport aux résultats obtenus précédemment par caryotypage.

QST*R-13

152 échantillons ont été testés en aveugle avec Elucigene QST*R-13. Parmi ceux-ci, 144 étaient normaux et 2 montraient une trisomie 13. Six échantillons n'ont pas produit de résultats interprétables malgré une amplification répétée. Tous les résultats analysables ont montré une spécificité et une sensibilité de 100 % par rapport aux résultats obtenus précédemment par caryotypage.

QST*R-18

152 échantillons ont été testés en aveugle avec Elucigene QST*R-18. Parmi ceux-ci, 143 étaient normaux et 4 montraient une trisomie 18. Cinq échantillons n'ont pas produit de résultats interprétables malgré une amplification répétée. Tous les résultats analysables ont montré une spécificité et une sensibilité de 100 % par rapport aux résultats obtenus précédemment par caryotypage.

QST*R-21

152 échantillons ont été testés en aveugle avec Elucigene QST*R-21. Parmi ceux-ci, 148 étaient normaux et 2 montraient une trisomie 21. Deux échantillons n'ont pas produit de résultats interprétables malgré une amplification répétée. Tous les résultats analysables ont montré une spécificité et une sensibilité de 100 % par rapport aux résultats obtenus précédemment par caryotypage.

ANNEXE 1 : EXEMPLES

Elucigene QST*R*plus*v2

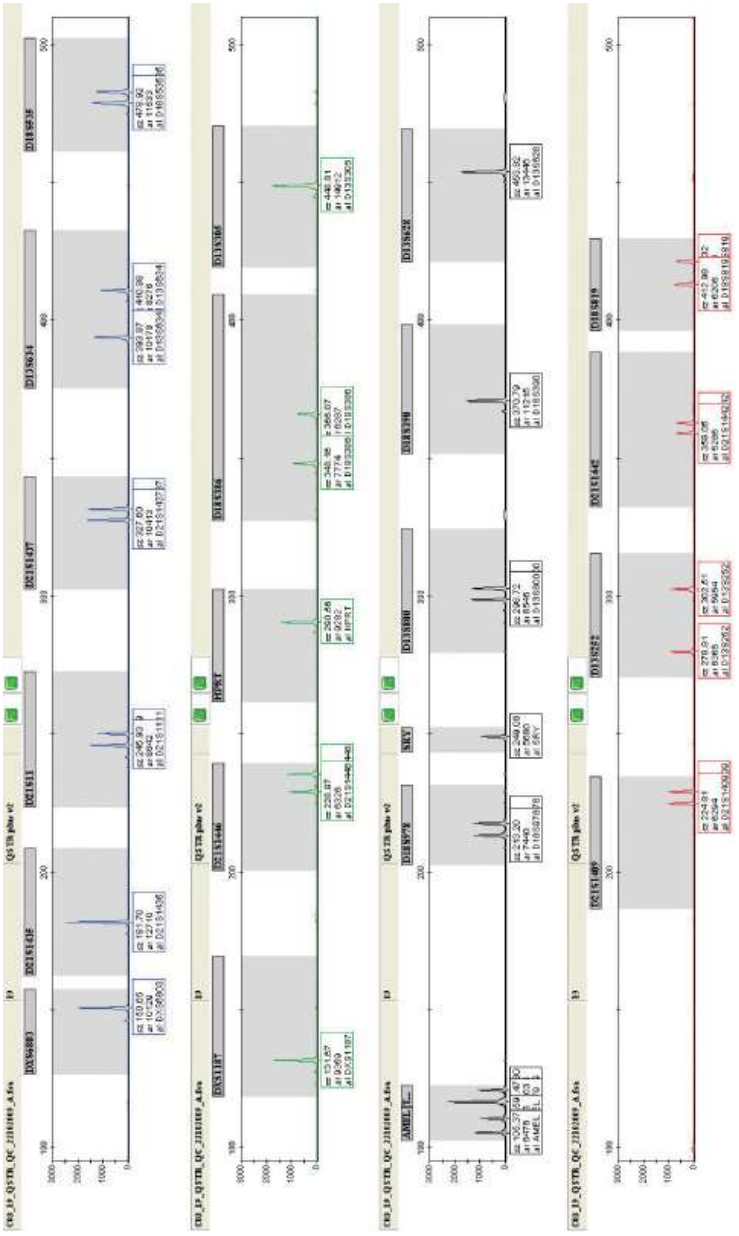
Les marqueurs sont étiquetés de la manière suivante :

6-FAM	VIC	NED	PET
DXS6803	DXS1187	AMEL	D21S1409
D21S1435	D21S1446	TAF9L	D13S252
D21S11	XHPRT	D18S978	D21S1442
D21S1437	D18S386	SRY	D18S819
D13S634	D13S305	D13S800	
D18S535		D18S390	
		D13S628	

Consulter l'annexe 2 pour obtenir plus de détails sur les marqueurs STR, y compris les plages de taille.

Elucigene QST*R*plus*v2 - GENEMAPPER

Un exemple de profil masculin QST*R*plus*v2 normal montrant la position relative des marqueurs détectés.



Elucigene QST*R

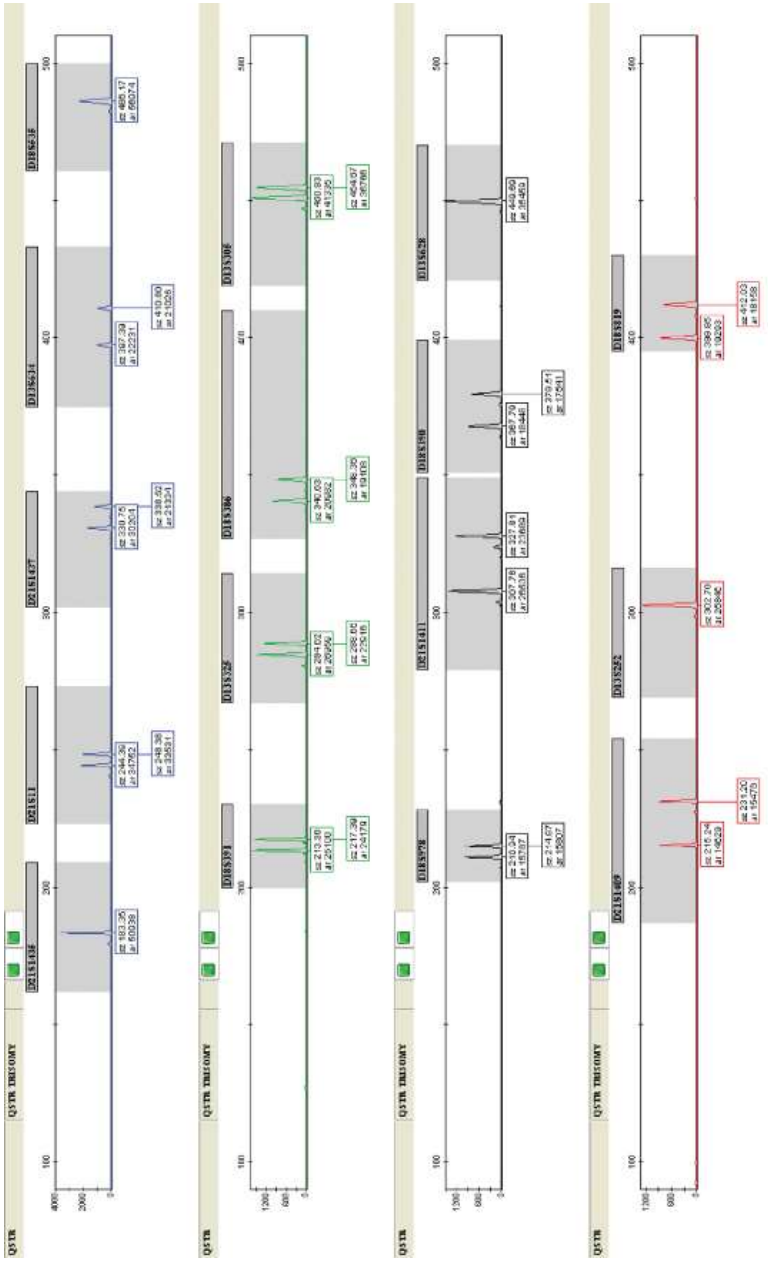
Les marqueurs sont étiquetés de la manière suivante :

6-FAM	VIC	NED	PET
D21S1435	D18S391	D18S978	D21S1409
D21S11	D18S325	D21S1411	D13S252
D21S1437	D18S386	D18S390	D18S819
D13S634	D13S305	D13S628	
D18S535			

Consulter l'annexe 2 pour obtenir plus de détails sur les marqueurs STR, y compris les plages de taille.

Elucigene QST*R - GENEMAPPER

Un exemple de profil QST*R normal montrant la position relative des marqueurs détectés.



Elucigene QST*R-XYv2

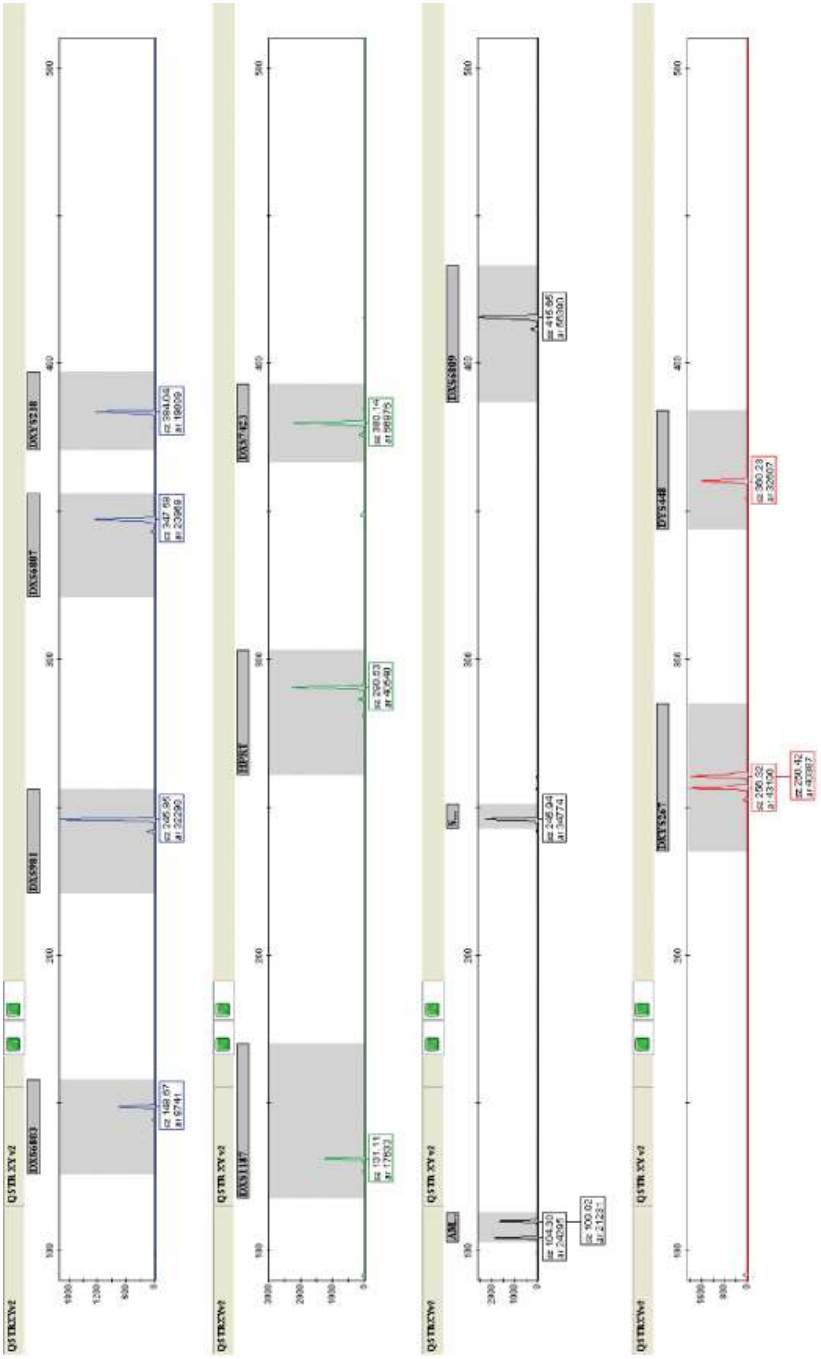
Les marqueurs sont étiquetés de la manière suivante :

6-FAM	VIC	NED	PET
DXS6803	DXS1187	AMEL	DXYS267
DXS981	XHPRT	SRY	DYS448
DXS6807	DXS7423	DXS6809	
DXYS218			

Consulter l'annexe 2 pour obtenir plus de détails sur les marqueurs STR, y compris les plages de taille.

Elucigene QST*R-XYv2 - GENEMAPPER

Un exemple de profil masculin QST*R-XYv2 normal montrant la position relative des marqueurs détectés.



Elucigene QST*R-21

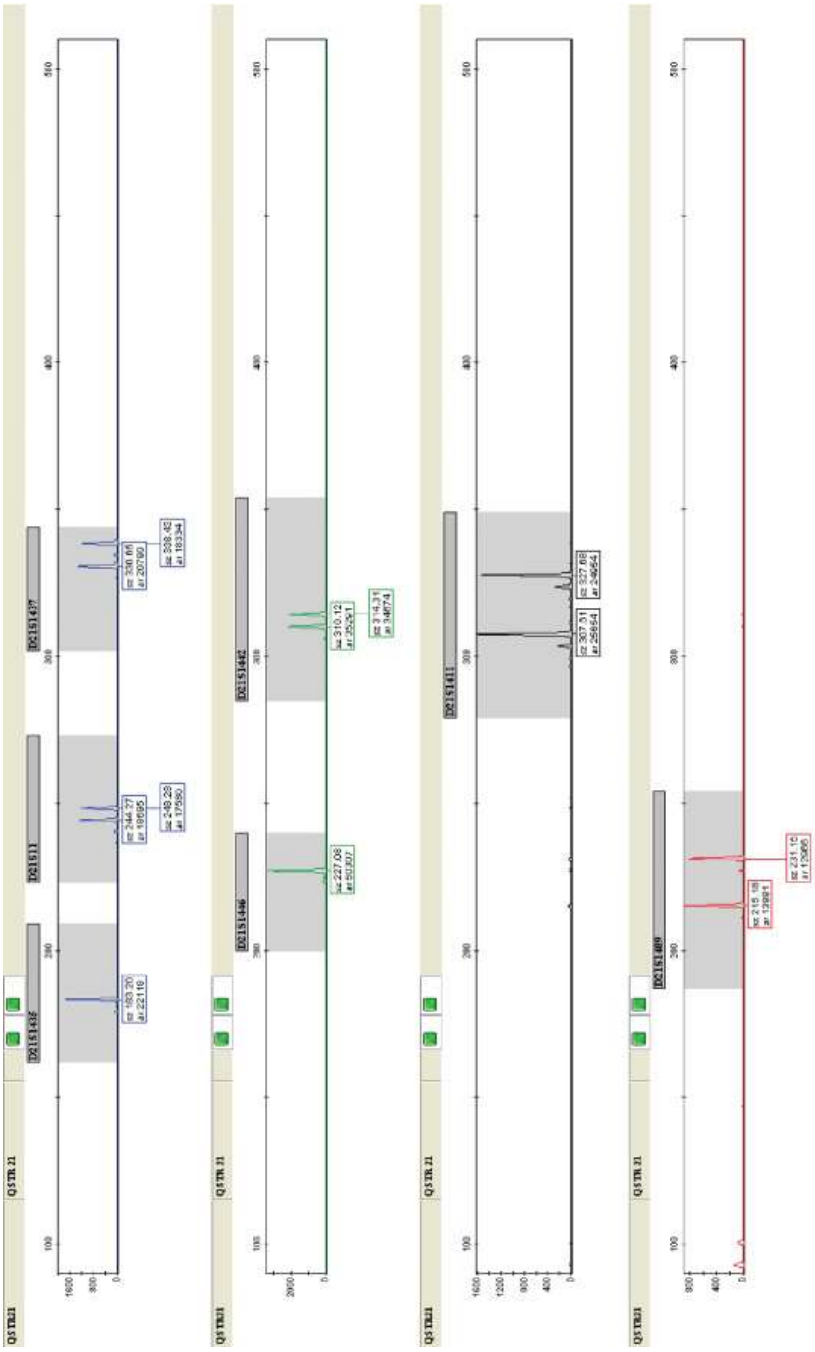
Les marqueurs sont étiquetés de la manière suivante :

6-FAM	VIC	NED	PET
D21S1435	D21S1446	D21S1411	D21S1409
D21S11	D21S1442		
D21S1437			

Consulter l'annexe 2 pour obtenir plus de détails sur les marqueurs STR, y compris les plages de taille.

Elucigene QST*R-21 - GENEMAPPER

Un exemple de profil QST*R-21 normal montrant la position relative des marqueurs détectés.



Elucigene QST*R-18

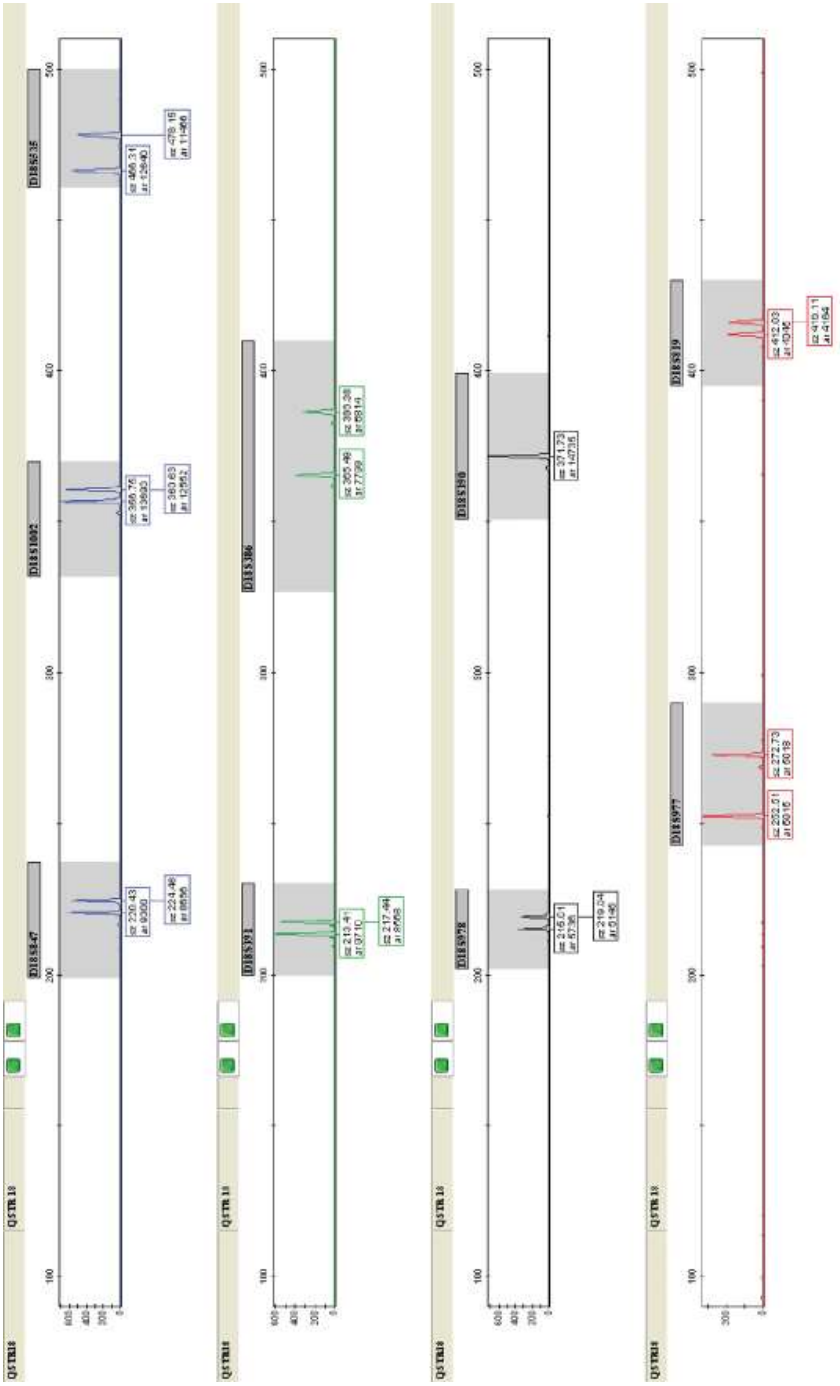
Les marqueurs sont étiquetés de la manière suivante :

6-FAM	VIC	NED	PET
D18S847	D18S391	D18S978	D18S977
D18S1002	D18S386	D18S390	D18S819
D18S535			

Consulter l'annexe 2 pour obtenir plus de détails sur les marqueurs STR, y compris les plages de taille.

Elucigene QST*R-18 - GENEMAPPER

Un exemple de profil QST*R-18 normal montrant la position relative des marqueurs détectés.



Elucigene QST*R-13

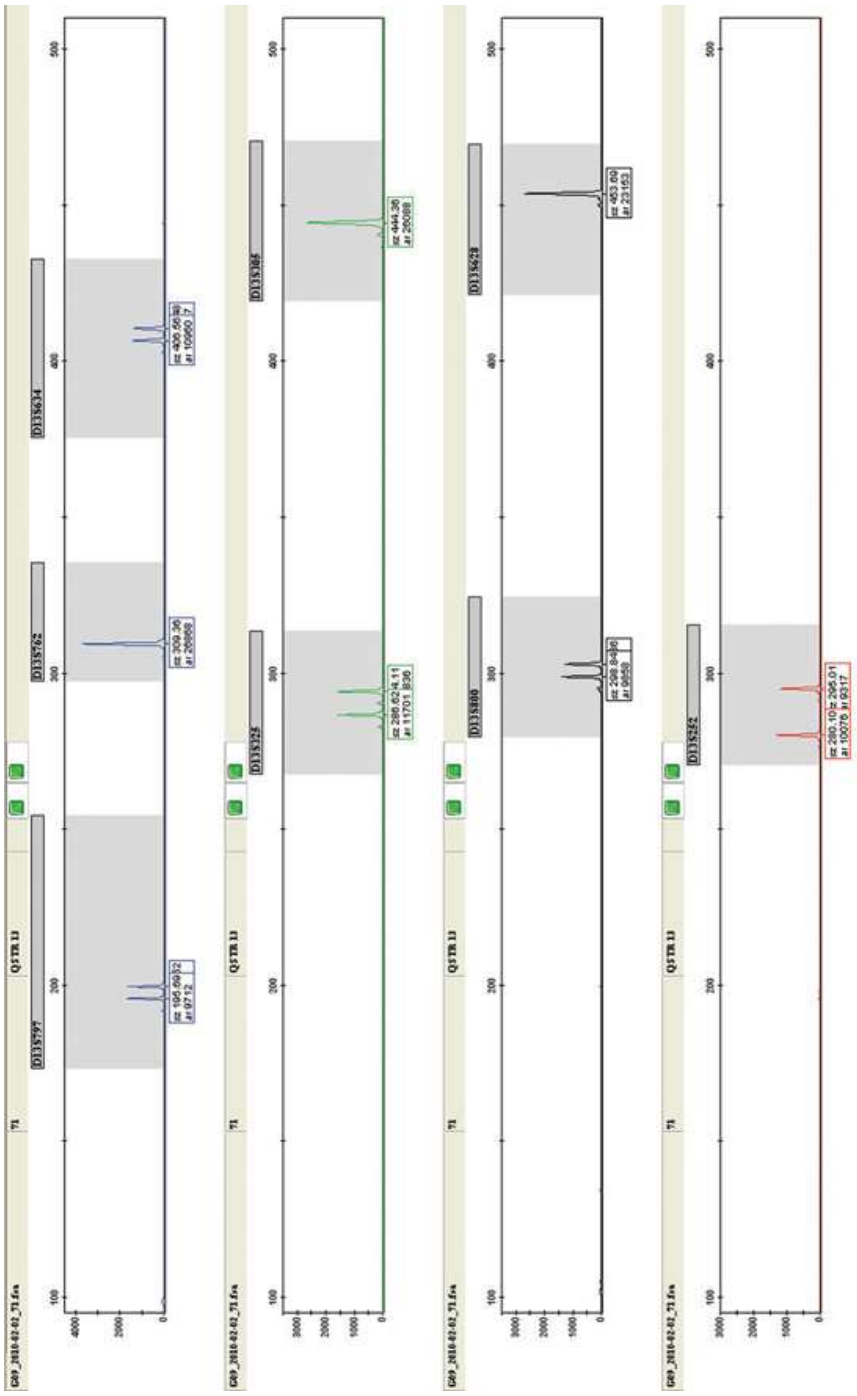
Les marqueurs sont étiquetés de la manière suivante :

6-FAM	VIC	NED	PET
D13S797	D13S325	D13S800	D13S252
D13S762	D13S305	D13S628	
D13S634			

Consulter l'annexe 2 pour obtenir plus de détails sur les marqueurs STR, y compris les plages de taille.

Elucigene QST*R-13 - GENEMAPPER

Un exemple de profil QST*R-13 normal montrant la position relative des marqueurs détectés.



ANNEXE 2 : TABLEAUX DES MARQUEURS UTILISÉS

***Remarque**: Le fluorochrome NED utilisé dans les kits a une identification spectrale jaune. Il est habituellement affiché en caractères noirs pour assurer la lisibilité.*

Les hétérozygosités observées sont basées sur un nombre d'allèles observés avec le panel de validation de Elucigene Diagnostics. Ces chiffres peuvent donc être différents des données publiées et peuvent aussi varier selon la population testée

Tableau 1. Marqueurs dans Elucigene QST*R*plus*v2

Marqueur	Emplacement	Hétérozygosité observée*	Plage de taille d'allèle (bp)	Couleur du fluorochrome de marquage
D13S252	13q12.2	0,74	274-311	rouge
D13S305	13q13.3	0,79	424-466	vert
D13S634	13q21.33	0,84	380-428	bleu
D13S800	13q22.1	0,72	284-320	jeune
D13S628	13q31.1	0,75	426-465	jeune
D18S819	18q11.2	0,73	400-425	rouge
D18S535	18q12.3	0,77	466-498	bleu
D18S978	18q12.3	0,71	207-223	jeune
D18S386	18q22.1	0,92	332-405	vert
D18S390	18q22.3	0,69	356-394	jeune
D21S11	21q21.1	0,82	228-279	bleu
D21S1437	21q21.1	0,76	307-347	bleu
D21S1409	21q21.2	0,74	191-239	rouge
D21S1442	21q21.3	0,85	332-389	rouge
D21S1435	21q21.3	0,74	167-204	bleu
D21S1446	21q22.3	0,76	205-235	vert
AMEL	Xp22.22/Yp11.2	s.o.	104/110	jeune
TAF9L	3p24.2/Xq21.1	s.o.	116/121	jeune
DXS6803	Xq21.31	0,86	131-153	bleu
XHPRT	Xq26.2	0,72	266-298	vert
DXS1187	Xq26.2	0,73	123-165	vert
SRY	Yp11.31	s.o.	248	jeune

Tableau 2. Marqueurs dans Elucigene QST*R

Marqueur	Emplacement	Hétérozygosité observée*	Plage de taille d'allèle (bp)	Couleur du fluorochrome de marquage
D13S252	13q12.2	0,74	274-311	rouge
D13S305	13q13.3	0,79	424-466	vert
D13S325	13q14.11	0,80	272-309	vert
D13S634	13q21.33	0,84	380-428	bleu
D13S628	13q31.1	0,75	426-465	jeune
D18S391	18p11.31	0,70	205-225	vert
D18S819	18q11.2	0,73	400-425	rouge
D18S535	18q12.3	0,77	466-498	bleu
D18S978	18q12.3	0,71	207-223	jeune
D18S386	18q22.1	0,92	332-405	vert
D18S390	18q22.3	0,69	356-394	jeune
D21S11	21q21.1	0,82	228-279	bleu
D21S1437	21q21.1	0,76	307-347	bleu
D21S1409	21q21.2	0,74	191-239	rouge
D21S1435	21q21.3	0,74	167-204	bleu
D21S1411	21q22.3	0,83	283-344	jeune

Tableau 3. Marqueurs dans Elucigene QST*R-XYv2

Marqueur	Emplacement	Hétérozygosité observée*	Plage de taille d'allèle (bp)	Couleur du fluorochrome de marquage
DXYS218	Xp22.32/Yp11.3	0,74	376-392	bleu
AMEL	Xp22.22/Yp11.2	s.o.	104-110	jeune
DXYS267	Xq21.31/Yp11.31	0,75	240-280	rouge
DXS6807	Xp22.3	0,66	326-351	bleu
DXS981	Xq13.1	0,73	226-260	bleu
DXS6803	Xq21.31	0,86	131-153	bleu
DXS6809	Xq21.33	0,78	392-436	jeune
DXS1187	Xq26.2	0,73	123-165	vert
XHPRT	Xq26.2	0,72	266-298	vert
DXS7423	Xq28	0,67	360-388	vert
SRY	Yp11.31	s.o.	248	jeune
DYS448	Yq11.223	s.o.	349-372	rouge

Tableau 4. Marqueurs dans Elucigene QST*R-21

Marqueur	Emplacement	Hétérozygosité observée*	Plage de taille d'allèle (bp)	Couleur du fluorochrome de marquage
D21S11	21q21.1	0,82	228-279	bleu
D21S1437	21q21.1	0,76	307-347	bleu
D21S1409	21q21.2	0,74	191-239	rouge
D21S1442	21q21.3	0,85	290-349	vert
D21S1435	21q21.3	0,74	167-204	bleu
D21S1411	21q22.3	0,83	283-344	jeune
D21S1446	21q22.3	0,76	205-235	vert

Tableau 5. Marqueurs dans Elucigene QST*R-18

Marqueur	Emplacement	Hétérozygosité observée*	Plage de taille d'allèle (bp)	Couleur du fluorochrome de marquage
D18S391	18p11.31	0,70	205-225	vert
D18S1002	18q11.2	0,76	337-365	bleu
D18S819	18q11.2	0,73	400-425	rouge
D18S847	18q12.1	0,71	204-232	bleu
D18S535	18q12.3	0,77	466-498	bleu
D18S978	18q12.3	0,71	207-223	jeune
D18S977	18q21.31	0,70	248-285	rouge
D18S386	18q22.1	0,92	332-405	vert
D18S390	18q22.3	0,69	356-394	jeune

Tableau 6. Marqueurs dans Elucigene QST*R-13

Marqueur	Emplacement	Hétérozygosité observée*	Plage de taille d'allèle (bp)	Couleur du fluorochrome de marquage
D13S252	13q12.2	0,74	274-311	rouge
D13S305	13q13.3	0,79	424-466	vert
D13S325	13q14.11	0,80	272-309	vert
D13S634	13q21.33	0,84	380-428	bleu
D13S800	13q22.1	0,72	284-320	jeune
D13S628	13q31.1	0,75	426-465	jeune
D13S762	13q31.3	0,75	302-331	bleu
D13S797	13q33.2	0,77	178-250	bleu

Limites de la procédure

Ce test est conçu pour détecter des trisomies chromosomiques spécifiques et des aneurploïdies des chromosomes sexuels, comme il est décrit dans le mode d'emploi. Il peut ne pas détecter les réorganisations structurelles impliquant les chromosomes testé et ne détectera pas les anomalies dans d'autres chromosomes. Il est possible que le mosaïcisme ne soit pas détecté pour les chromosomes testés. Un résultat QST*R peut uniquement être appliqué au tissu testé et peut ne pas représenter le caryotype fœtal. Une contamination par des cellules maternelles (CCM) et un mosaïcisme confiné au placenta (MCP) peuvent résulter des divergences entre les résultats du QST*R et du caryotype.

Remarque : *Les hétérozygosités des marqueurs utilisés ont été dérivés d'un ensemble d'échantillons au hasard soumis pour des analyses de routine et provenant d'une population principalement blanche d'Europe du nord. Tous les calculs effectués en utilisant ces hétérozygosités s'appliquent strictement à la population à l'origine des échantillons. Une petite étude utilisant des échantillons dérivés localement peut être réalisée dans le cadre d'une étude de validation pour établir les hétérozygosités dans la population à tester. Il n'est pas attendu que les variations de population modifient significativement l'informativité globale du test.*

Exonération de responsabilité

Les résultats de ce test et d'autres tests diagnostics doivent être interprétés en association avec d'autres données de laboratoire et cliniques à la disposition du clinicien.

Ces réactifs Elucigene sont fournis pour des tests de diagnostic in vitro.

Plus de détails sur les produits Elucigene QST*R sont disponibles sur :
www.elucigene.com/products

Bibliographie

1. CG Antenatal Care: full guidelines (Corrected June 2008) UK National Institute for Health and Clinical Excellence
2. O'Connor, C. (2008) Trisomy 21 Causes Down syndrome. Nature Education 1(1).
3. Mansfield E S. Diagnosis of Down syndrome and other aneuploidies using quantitative polymerase chain reaction and small tandem repeat polymorphisms. Human Molecular Genetics 1993 2(1): 43-50
4. Mann K, Fox SP, Abbs SJ, Yau SC, Scriven PN, Docherty Z, Mackie Ogilvie C. Development and implementation of a new rapid aneuploidy diagnostic service within the UK National Health Service and implications for the future of prenatal diagnosis. The Lancet 2001 358 (9287): 1057-1061
5. Mann K, Donaghue C, Fox SP, Docherty Z, Mackie Ogilvie C. Strategies for the rapid prenatal diagnosis of chromosome aneuploidy. European Journal of Human Genetics 2004 12: 907-915
6. Mackie Ogilvie C, Donaghue C, Fox SP, Docherty Z, Mann K. Rapid prenatal diagnosis of an aneuploidy using Quantitative Fluorescence-PCR (QF-PCR). Journal of Histochemistry and Cytochemistry 2005 53(3): 285-288
7. Deutsch S, Choudhury U, Merla G, Howald C, Sylvan A, Antonarakis SE. Detection of aneuploidies by paralogous sequence quantification. Journal of Medical Genetics 2004 41: 908-915

ELUCIGENE et QST*R sont des marques commerciales de Delta Diagnostics (UK) Ltd.

GENEMAPPER, GENESCAN, VIC, PET, NED, LIZ, POP-7 et HI-DI sont des marques commerciales de Life Technologies Corporation. QIAAMP est une marque commerciale de Qiagen Gmbh. GENEMARKER est une marque commerciale de SoftGenetics Corporation. INSTAGENE est une marque commerciale de Bio-Rad Laboratories Inc.

Avis à l'acheteur: Licence limitée
Les polynucléotides marqués par les fluorochromes VIC, NED et PET et/ou leur utilisation peuvent être protégés par un ou plusieurs brevets appartenant à Applied Biosystems, LLC. Le prix d'achat de ce produit comprend des droits limités non transférables conformément à certaines demandes de brevets appartenant à Applied Biosystems, LLC pour l'utilisation de cette quantité de produit destinée uniquement aux activités de détection des cibles de l'acheteur dans le cadre d'un diagnostic humain. Aucun autre droit n'est octroyé. De plus amples informations sur les licences d'achat concernant les fluorochromes mentionnés plus haut peuvent être obtenues en contactant outlicensing@lifetech.com.

Copyright © 2014 Delta Diagnostics (UK) Ltd.